

Experimentelle Untersuchungen
über den
Immunkörpergehalt von Muskelpressaftextrakt
bei Kaninchen-Tuberkulose

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
EGON HERBIG aus Prag

Basel
Buchdruckerei Kreis & Co. A.G.
1952



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Experimentelle Untersuchungen
über den
Immunkörpergehalt von Muskelpressaftextrakt
bei Kaninchen-Tuberkulose

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
EGON HERBIG aus Prag

Basel
Buchdruckerei Kreis & Co. A.G.
1952

Von der Medizinischen Fakultät genehmigt auf Antrag von
Herrn Prof. F. Roulet.

Tag der Promotion:

2. Februar 1952.



Inhaltsverzeichnis:

	Seite
1. Vorwort	5
2. Problemstellung	5
3. Material und Technik	
a) Tierversuch	9
b) MPS-Wirkung auf Tuberkelbazillen-Kulturen	12
c) Hämagglutinationsreaktion	12
d) Elektrophoresediagramm	12
4. Ergebnisse	
a) Tierversuch	13
b) MPS-Wirkung auf Tuberkelbazillen-Kulturen	14
c) Hämagglutinationsreaktion	15
d) Elektrophoresediagramm	15
5. Diskussion der Ergebnisse	16
6. Zusammenfassung	22
7. Literaturverzeichnis	23

*Meinen Eltern in Dankbarkeit
gewidmet.*

1. Vorwort

In der vorliegenden Arbeit sind die Resultate mehrerer Versuche verwertet, die in den Jahren 1945—1951 auf Anregung von Herrn Dr. H. Stöcklin (Chefarzt der Thurg.-Schaffh. Heilstätte, Davos) und Herrn Prof. Dr. E. Hess (Vorsteher des Vet.-bakt. Institutes der Universität Zürich) unternommen wurden.

Meine eigenen Untersuchungen beschränken sich auf die letzte Versuchsreihe, deren experimenteller Teil im Laboratorium der Thurg.-Schaffh. Heilstätte Davos durchgeführt wurde und deren histopathologische Verarbeitung ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. F. Roulet (Path. Anstalt der Universität Basel) unternahm. Ferner wurde mir die Gesamtauswertung des Versuches übertragen. Meinem Lehrer, Herrn Prof. F. Roulet, möchte ich an dieser Stelle für seine hilfreiche Leitung den herzlichsten Dank aussprechen. Grossen Dank schulde ich vor allem Herrn Dr. H. Stöcklin und Herrn Prof. E. Hess für das Interesse, das sie meiner Arbeit stets entgegenbrachten und die grosszügige Unterstützung, die mir die Durchführung meiner Untersuchungen ermöglichten. Auch Herr Prof. Dr. W. Berblinger, Vorsteher des Schweiz. Forschungsinstitutes für Tuberkulose in Davos, welcher äusserst entgegenkommend die Wirkung des Muskelpressaftes (MPS) in Tuberkulose-Nährböden auf das Bakterienwachstum geprüft hat, sei dankend erwähnt. Ferner bin ich Herrn Dr. H. Brodhage für die sorgfältige Durchführung der Hämagglutinationsreaktionen und elektrophoretischen Untersuchungen, die er in freundlicher Weise für uns durchgeführt hat, zu Dank verpflichtet. Sehr verbunden bin ich Herrn P. Thoma, Cheflaborant des Vet.-bakt. Institutes Zürich, für die schwierige und äusserst exakte Herstellung des MPS und die Durchführung einiger Wachstumsinhibitionsversuche, die es mir ermöglichten, auch über den Effekt des MPS auf Tuberkelbazillenkulturen Aussagen zu machen.

Der Firma Dr. A. Gräub AG. Bern danke ich für die kostenlose Überlassung von 4-fach eingedicktem Alttuberkulin, welches freundlichst eigens für die Hämagglutinationsreaktion hergestellt wurde.

2. Problemstellung

Viele Jahre hindurch herrschte eine grosse Meinungsverschiedenheit in der Auffassung über die immunologischen Mechanismen bei Tuberkulose. Heute aber darf man — durch viele gründliche Untersuchungen geführt — annehmen, dass sich die Tuberkulose immunologisch genau so verhält wie jede andere bisher untersuchte Infektionskrankheit (1—4, 20). Bis heute gibt es keine andere gut begründete Theorie über die Bildung erworbener Resistenz als diejenige, die die Bildung der Resistenz durch die Produktion

von Antikörpern (AK) annimmt: Genau durchgeführte experimentelle Untersuchungen auch anderer Krankheiten, wie z. B. der Malaria (6) und Lues (5), haben die Schutzwirkungsmechanismen der AK gezeigt.

Selbstverständlich verläuft die AK-Produktion bei Tuberkulose etwas anders als bei einer akut verlaufenden Infektionskrankheit, da die Tuberkulose der Prototyp einer chronischen Infektionskrankheit ist (7), wenngleich auch schnellverlaufende Fälle häufig vorkommen. Die Generationszeit der Tuberkelbazillen beträgt 36 Stunden und ist somit fast ein 50-faches der Generationszeit anderer pathogener Mikroorganismen. So kommt es denn auch, dass die AK-Produktion wesentlich langsamer verläuft und deshalb zunächst oft nicht wahrgenommen wird.

Die Anwesenheit von AK bei Tuberkulösen wurde von verschiedenen Autoren festgestellt. Über die therapeutische Wirkung solcher Immunsera liegen experimentelle Untersuchungen vor (8—13, 41, 42, 43), von denen besonders die Arbeit Römer's (8) hervorzuheben ist [andere Autoren (9—13, 41, 42, 43)]. Römer infizierte 4 Tuberkulin-negative Schafe mit gleichen Dosen von Tuberkelbazillen. Zwei von ihnen behandelte er mit Serum von immunisierten Schafen (1 Injektion à 10 ccm Serum einmal wöchentlich, 5 Wochen lang). Die beiden Kontrolltiere starben 6 Wochen nach der Infektion an extrem generalisierter Tuberkulose. Ein mit Serum behandeltes Tier wurde in gutem Gesundheitszustand am Ende des 10. Monats getötet. Es zeigten sich nur einige wenige, enkapsulierte Laesionen in den Lungen und den peribronchialen Lymphdrüsen. Das andere Versuchstier lebte 1½ Jahre und hatte bei der Autopsie keine Spuren von durchgemachter Tuberkulose.

Positive Resultate erzielten mit derselben Methode bei einer grösseren Anzahl von Versuchstieren auch Neufeld und Lange (14) und Mayer und Hurley (15). Von besonderem Interesse ist ein zweiter Versuch Römer's. Er verwendete dazu Immunserum eines Versuchsschafes, welches 7 Monate vorher infiziert und darnach sofort mit Immunkörpern behandelt worden war. Dieser Versuch fiel negativ aus, da alle Versuchstiere an Tuberkulose starben. Das Ergebnis dieses Versuches kann dadurch erklärt werden, dass das verwendete Immunserum kaum noch AK enthielt, da die Infektion 7 Monate zurücklag. Es ergibt sich daraus die Frage, ob die Tuberkulose-AK nach überwundener Infektion völlig aus dem Organismus verschwinden, oder ob sie aus dem Serum in die Zellen immigrieren.

Calmette unterscheidet eine zelluläre und eine humorale Immunität. Letztere ist durch die Infektion oder die Intoxikation mit Bakterien, Bakteriengiften oder andern Toxinen gegeben. Die zelluläre Immunität tritt dagegen nur bei Individuen auf, die Träger des spezifischen, lebenden Keimes sind. Diese manifestiert sich in einem Zustand der Durchmischung von Symptomen einer Überempfindlichkeit oder Allergie gegen die von den betreffenden Keimen erzeugten spezifischen Eiweisskörper, mit den

Zeichen einer Resistenz gegen die erneute Einführung dieses Keimes, d.h. Resistenz gegenüber Reinfektion (Koch'sches Phänomen) (1). Allergie und Resistenz sind aber nicht untrennbar miteinander verbunden, wie die Untersuchungen von *W.S. Willis* (2) beweisen.

Was nun die Wirkungsweise der AK betrifft, so ist bekannt, dass sie weder lytisch (16, 17, 19 u. 21) noch baktericid (22, 23, 24, 25 u. 26) wirken (46), sondern dass sie wahrscheinlich als Opsonine in Erscheinung treten, also als Stoffe, welche sich an die Bakterien anlagern und diese der Phagozytose beschleunigt zuführen. Sie machen somit die Bakterien gegenüber der Phagozytose empfindlicher und daher auch gegenüber der dort erfolgenden Destruktion. Sicher ist, dass es vor allem die Monozyten sind, welche phagozytieren, und sicherlich spielen die Lymphozyten, die man gehäuft um alle tuberkulösen Gewebsveränderungen finden kann, eine grosse Rolle bei den Abwehrmassnahmen des Gewebes (27 u. 28).

In Gewebskulturen, welche mononukleäre und polynukleäre Phagozyten, Gewebszellen und Plasma immunisierter Tiere enthielten, gelang es *Rich, A.R.*, und *Lewis, W.H.* (unveröffentlichte Untersuchungen), nie eine extrazelluläre Lysis von Tuberkelbazillen zu demonstrieren. Es zeigte sich im Gegenteil eine ausgesprochene Proliferation der extrazellulären Bakterien in den Kulturen.

Wichtig ist der säubernde Effekt des AK enthaltenden Serums. Bringt man Bakterien in die Blutbahn ein, so verhindert dieser Effekt die Metastasenbildung. Die Bakterien werden bei hohem AK-Titer viel schneller aus dem Kreislauf entfernt.

Um das Problem der Zellständigkeit der AK anzugehen, wurde von *H. Stöcklin* und *E. Hess* ein bisher auf Immunkörper schlecht untersuchtes Organsystem, die Skelettmuskulatur, ausgewählt.

Skelettmuskulatur und Herzmuskel (29, 30 u. 31) zeichnen sich dadurch aus, dass sie im Verlauf einer Infektion praktisch nie von Tuberkelbazillen besiedelt werden.

So konnten von *Müller* (33) in MPS von 37 tuberkulose-kranken Kälbern und 60 tuberkulösen Schweinen in keinem Falle Tuberkelbazillen nachgewiesen werden.

Muskelgewebe erweist sich auch bei Miliartuberkulose als resistent und Fälle von Tuberkelbazillen-haltigem MPS dürften als Ausdruck einer Hämobacillose [*Schürmann, P.* (34)] gelten. Für das Freibleiben der Muskulatur von Tuberkelbazillen nimmt *Müller* folgende Gründe an: Das Muskelgewebe bietet den Tuberkelbazillen keine Angriffsfläche. Wenn bei stärkerer Beladung des arteriellen Blutstromes mit Bazillen diese in die Muskelkapillaren gelangen, so werden sie durch die reichlichen Anastomosen relativ rasch in die venösen Kapillaren übergeschwemmt, um dann erst in den RES-Organen abgelagert zu werden. Sie haften nicht in den Muskelkapillaren, weil die Endothelien dort kein korpuskuläres Speicher- vermögen ausgebildet haben, sondern nur Gasaustauschfunktionen ausüben. Eine Muskeltuberkulose kommt ausnahmsweise nur dann zustande, wenn

Bazillen die Möglichkeit zur Ansiedlung im intermuskulären Bindegewebe haben. «Ohne Bindegewebe und ohne die dessen Zellen umfliessenden Säfte ist keine Tuberkulose denkbar.»

Nach einer neuen Publikation von *Meyn, A.* (47) lassen sich im Fleisch tuberkulöser Schlachtrinder verhältnissmässig oft Tuberkelbazillen nachweisen, ohne auch nur histologisch feststellbare Muskelmetastasen zu hinterlassen. Diese symptomlosen Keimablagerungen in der Muskulatur führt der Autor auf diskrete, kleine, kurze Schübe in die Blutbahn zurück. Die in den Blutkreislauf eingedrungenen Keime werden sehr bald von bestimmten, in der Intima der Gefässe sitzenden, und zum RES gehörenden Zellen erfasst und festgehalten. Die abgefangenen Tuberkelbazillen werden nach einer gewissen Latenzzeit, während welcher sie histologisch und bakteriologisch nachweisbar sind, vernichtet.

In diesem Zusammenhang interessiert die Arbeit *Constantini's* (40), dem es gelang, einen Stamm humaner Tuberkelbazillen mit einer besonderen Affinität gegenüber Muskelgewebe zu züchten. Der Stamm wurde durch sukzessive vermehrte Zugabe von Muskelgewebe zum Nährmilieu an Muskelgewebe gewöhnt, sodass er schliesslich auf reinem Muskelmilieu wuchs. Versuchstiere, welche mit diesem Stamm intravenös infiziert wurden, entwickelten eine Muskeltuberkulose.

Die vorliegende Arbeit befasst sich nun mit der Untersuchung der Wirkung eines MPS, der von Kaninchen gewonnen wurde, die mit *Mycobacterium tuberc. var. hominis* immunisiert wurden, und der nach vorher erwähnter Hypothese zellständige AK enthalten soll. — Zur Aufklärung folgender Fragen soll ein Beitrag geleistet werden.

1. Enthält der MPS immunisierter Kaninchen AK?
2. Wäre im Fall, dass genügend Antikörper vorhanden sind, damit die Möglichkeit einer unterstützenden Therapie gegeben?

Über die Wirkung des MPS auf Tuberkelbazillen sind uns nur folgende Resultate bekannt:

Feurig, H. (32) erzielt mit MPS in Tuberkelbazillen-Kulturen keinen wachstums-hemmenden Effekt.

Richtet, Ch. (35) behandelt 28, mit bovinen Tuberkelbazillen einer sehr virulenten Kultur intravenös infizierte Kaninchen mit MPS von Pferden. Der MPS wurde der einen Hälfte der Versuchstiere intravenös, der anderen Hälfte intramuskulär, alle 2 Tage appliziert. Neun Tiere wurden zur Kontrolle verwendet. Von den Versuchstieren starben 4 vorzeitig an Proteinschock. Die intravenös behandelten Versuchstiere lebten durchschnittlich um $\frac{1}{4}$, die intramuskulär behandelten um $\frac{1}{3}$ länger als die Kontrolltiere. — Bei der geringen Anzahl der Versuchstiere ist jedoch dieses Resultat statistisch nicht verwertbar.

Um den Immun-MPS auf seinen AK zu prüfen, wurde die Wirkung dieses MPS zunächst im Tierversuch an tuberkulösen Meerschweinchen untersucht, da zu Beginn der vorliegenden Arbeiten in den Jahren 1944—45 noch keine zuverlässige Tuberkulose-Antikörpertitrationsmethode ausgearbeitet war.

Ausserdem schien es angezeigt, die nur schlecht belegten MPS-Untersuchungen im Tierversuch mit einer verbesserten Versuchsanordnung zu wiederholen.

Gleichzeitig wurde die MPS-Wirkung auf Kulturmedien geprüft und 1951 zum Abschluss noch eine Titration der AK nebst elektrophoretischen Untersuchungen durchgeführt. Mittels der letzteren wollte man die eventuelle Vermehrung einer Globulinfraction nachweisen, in welcher man die Antikörper vermutet.

3. Material und Technik

a) Tierversuch

Als Versuchstiere wurden Meerschweinchen gewählt. An einem bestimmten Tag erhielten wohlgenährte, gesunde Tiere in die linke Leisten-
gend eine Aufschwemmung von *Mycobact. tubercul. var. hominis*, welche folgendermassen hergestellt wurde: Eine Tuberkelbazillenaufschwemmung, geliefert vom Vet.-bakt. Institut Zürich, eingestellt auf 40.000 Keime pro ccm (das entspricht 4—5 Keimen pro Gesichtsfeld, kontrolliert an 70 Gesichtsfeldern) wurde auf 1:1000 verdünnt. Das entsprach einer Keimzahl von 40—50 pro ccm. Davon erhielt jedes Meerschweinchen $\frac{1}{2}$ ccm subcutan. Alle Tiere wurden gleichzeitig infiziert. $\frac{1}{4}$ aller Tiere blieb als Kontrolltiere unbehandelt. $\frac{1}{4}$ aller Tiere erhielt unmittelbar nach der Infektion 1 ccm MPS, das dritte Viertel erst nach 14 Tagen die erste MPS-Injektion. Bei dem letzten Viertel trat der Behandlungsbeginn erst nach Erscheinen der ersten palpablen Leistendrüsen ein.

Die Herstellung des MPS übernahm Herr Prof. *Hess*, Vorsteher des Vet.-bakt. Institutes in Zürich. Durch ein sehr geschicktes Verfahren gelangte man auf folgende Weise zum gebrauchsfertigen MPS: Kaninchen wurden während ca. 28 Wochen, vom Infektionstag an gerechnet, in abnehmenden Zeitintervallen 6, evtl. sogar 8 mal s.c. mit je 1,0 ccm dichter Aufschwemmung von *Mycobact. tubercul. var. hominis* infiziert. Sie wurden einer laufenden Gewichtskontrolle unterzogen und nahmen trotz schwerer örtlicher Infektion stets an Gewicht etwas zu. Bei wiederholter ausserordentlich massiver Infektion zeigten die Tiere trotzdem nur örtliche Veränderungen in Form von Knielymphdrüsen, die manchmal fast Pflaumengrösse erreichten und sehr zahlreiche, bohnen-grosse, eitrig-einschmelzungen in den Lymphdrüsen, im intermuskulären Bindegewebe und in der Gastrocnemiusmuskulatur. Bei der Sektion wiesen die innern Organe keinerlei tuberkulöse Veränderungen auf, nicht einmal Milzschwellung und Lungenherde. Nur bei einem Tier fanden sich vereinzelte grau-gelbe Leberherdchen, die bei mikroskopischer Untersuchung keimfrei waren. Die Skelettmuskulatur war auffallend blass; vor allem hob sich die affizierte Hinterschenkelmuskulatur glasig und weisslich von der normalgefärbten, übrigen Stammesmuskulatur ab. Nach der Tötung wurde die gesamte Muskulatur vom Skelett abgelöst, ohne Fett und Sehnen zweimal durch die Fleischhackmaschine passiert und mit einer äquivalenten Menge

von physiol. Na-Cl-Lösung im Turnix vollständig homogenisiert. Der Brei wurde an fünf aufeinanderfolgenden Tagen bei minus 20 Grad eingefroren, täglich einmal langsam aufgetaut und abgepresst. Diese Methode des wiederholten und langsamen Einfrierens und Wiederauftauens dürfte deshalb von besonderem Werte sein, weil sich beim allmählichen Durchlaufen des Gefrierpunktes grosse Eiskristalle bilden, welche die Sarkolemmschläuche zerreißen und das Sarkoplasma freigeben. Danach wurde ein grosser Teil der Albumine ausgefällt. Wie das Elektrophorese-Diagramm zeigt, blieben vor allem die beta- und gamma-Globuline übrig, die die AK enthalten dürften. Die ca. 1000 ccm Pressaft wurden keimfrei filtriert, steril in Ampullen abgefüllt und im Kühlschrank aufbewahrt.

Der dergestalt hergestellte MPS wurde im Schweiz. Forschungsinstitut Davos von Herrn Prof. W. Berblinger und später im Vet.-bakt. Institut Zürich von Herrn Prof. E. Hess auf seine wachstumshemmenden Eigenschaften geprüft, wobei sowohl MPS gesunder wie auch immunisierter Tiere verwendet wurde. Das Ergebnis war: Manchmal gingen in MPS immunisierter Tiere eingebrachte Tuberkelbazillen nicht an, wahrscheinlich aber war die saure Reaktion verantwortlich für die Wachstumsinhibition. Wiederholte Versuche ergaben keinen Unterschied von MPS immunisierter Tiere und gesunder Tiere und keinen Einfluss auf das Bakterienwachstum. Es wurde bis zu 5% MPS zu flüssigen Nährmedien beigemischt, in Trommsdorff-Röhrchen kultiviert und durch Zentrifugation die gewachsene Bakterienmenge bestimmt.

Als Beispiel der Methode möge der letzte Versuch ausführlich geschildert werden:

50 wohlgenährte Tiere, mit einem Durchschnittsgewicht von 450 Gramm, wurden ausgewählt. 8 Meerschweinchen dienten als Kontrolltiere. Alle Tiere wurden am 25. Aug. 1949 mit $\frac{1}{2}$ ccm Tuberkelbazillen-Emulsion infiziert. In der Folge erhielten alle Versuchstiere mit Ausnahme der Kontrolltiere wöchentlich 2 mal MPS subkutan: Bei der ersten Gruppe schon am selben Tag wie beschrieben. Die Dosen betrugen 5 bis 6 mal einen ccm. Hierauf wurde 7 mal hintereinander nur $\frac{1}{4}$ ccm gegeben, um anaphylaktische Zustände zu verhindern, welche sich in den ersten Versuchen eingestellt hatten. Nach zweimaliger Applikation von einem halben ccm, ging man wieder auf die anfängliche Dosis von 1 ccm zurück, welche bis Versuchsabschluss innegehalten wurde. Wöchentlich einmal wurden die Tiere einer Gewichtskontrolle unterzogen. Es traten verschiedentliche individuelle Schwankungen auf, die sich teils auf durchgemachte Graviditäten, teils aber auf Umstellung von Grün- auf Rübenfutter zurückführen liessen. 3 Tage nach der Infektion starb ein Tier spontan, sodass es aus dem Versuch ausfiel. Daher blieben insgesamt 41 MPS- und 8 Kontrolltiere übrig. Kurz vor Versuchsabschluss starben einige Tiere spontan; doch zeigten sie alle so ausgesprochene pathologische Veränderungen, die

es gestatteten, sie in den Versuch miteinzubeziehen. Am 6. und 7. Jan. 1950 wurde der Versuch abgeschlossen und die Tiere durch Nackenschlag getötet. Der genaue Sektionsbefund wurde aufgenommen und von jedem Tier aus folgenden Organen suspekte Stellen excidiert und in Formol fixiert: aus Lunge, Leber, Milz, Inguinal- und Tracheallymphdrüsen. Nach genügend langer Fixation wurden nun alle Organteile über Methylbenzoat eingebettet und geschnitten. Von jedem Organ wurden 50 Schnitte aus verschiedenen Schnitt-Tiefen auf Objektträger gebracht und hierauf gefärbt. 10 bis 12 Schnitte nach Ziehl-Neelsen, 10 bis 12 Schnitte nach Hämalan-Eosin und zusätzlich bei allen Lungen- und Milzschnitten 10 bis 12 nach van Gieson.

Die histologische und bakteriologische Beurteilung wurde ebenfalls zu Protokoll genommen, wozu zu sagen ist, dass bei der bakteriologischen Untersuchung 100 Gesichtsfelder pro Organ ausgezählt wurden, bei einer 900-fachen Vergrößerung.

Kurz soll hier die Anordnung vorausgegangener Versuche und deren Ergebnisse beschrieben werden:

1. Versuch: 29. 10. 45 bis 21. 1. 46 u. 17. 10. 45 bis 21. 1. 46.

6 verwertbare Tiere wurden nach der gewohnten Infektion in die Inguinalgegend mit total 90 ccm MPS behandelt, welcher MPS leider nicht ganz steril war. Die Einzeldosis betrug 10 ccm alle 2 bis 3 Tage.

10. 1. 46 bis 20. 3. 46: 10 verwertbare Tiere, davon 5 MPS- und 5 Kontrolltiere. Es wurden 47 ccm MPS total gegeben, in Dosen von 4 bis 5 ccm alle 3 bis 4 Tage.

14. 2. 46 bis 18. 4. 46: 14 verwertbare Tiere, davon 4 Kontrolltiere. 5 Tiere, die mit MPS gesunder Kaninchen und 5 Tiere, die mit Immun-MPS behandelt wurden. MPS wurde täglich, ausser sonntags, in Totaldosis von 116 ccm, d.h. täglich 2 bis 4 ccm, gegeben.

2. Versuch: 6. 8. 46 bis 4. 1. 47:

6 Tiere erhielten vom Infektionstag ab täglich 3 ccm, später jeden zweiten Tag 2 ccm MPS einer Tuberkulin-negativen Kuh, total ca. 220 ccm.

6 Tiere erhielten ab 2. 9. (linke Lymphdrüse palpabel) MPS einer völlig gesunden Tuberkulin-negativen Kuh, total 110 ccm.

6 Tiere erhielten ab 2. 9. MPS einer tuberkulösen Kuh, total ca. 110 ccm.

6 Tiere erhielten als Kontrolltiere keinen MPS.

3. Versuch: 25. 9. 46 bis 4. 1. 47.

6 Tiere erhielten vom Beginn jeden zweiten Tag 2 ccm MPS einer Tuberkulin-positiven Kuh, total 68 ccm.

6 Tiere erhielten ab 27. 10. jeden zweiten Tag 2 ccm einer gesunden, Tuberkulin-negativen Kuh, total 42 ccm.

6 Tiere erhielten ab 27. 10. jeden zweiten Tag 2 ccm einer tuberkulösen Kuh, total 36 ccm.

6 Tiere erhielten als Kontrolltiere keinen MPS.

4. Versuch: 12. 11. 47 bis 25. 1. 48.

Bei dieser Versuchsreihe wurde erstmals MPS immunisierter Kaninchen verwendet, gewonnen nach dem weiter vorn angegebenen Verfahren.

10 Tiere wurden mit Infektionsdatum mit total 60 ccm MPS behandelt in Dosen von 2 ccm alle zwei Tage.

13 Tiere erhielten 30 ccm MPS in Dosen von $\frac{1}{2}$ bis 1 ccm alle 2 Tage.

12 Tiere blieben als Kontrolltiere unbehandelt.

5. Versuch: wegen Massensterbens durch eine Infektion nicht verwertbar.

6. Versuch: 25. 8. 49 bis 7. 1. 50.

14 Tiere wurden ab 25. 8. mit durchschnittlich 28 ccm MPS behandelt in $\frac{1}{4}$ bis 1 ccm Dosen 2 mal wöchentlich.

14 Tiere wurden ab 1. 9. in gleichen Dosen behandelt: 27 ccm.

13 Tiere wurden ab 16. 9. in gleichen Dosen behandelt: 22 ccm.

8 Tiere wurden als Kontrolltiere nicht behandelt.

b) MPS-Wirkung auf Tuberkelbazillen-Kulturen

MPS wurde verschiedenen Nährmedien zugesetzt und das Bakterien-Wachstum (*Mycobacterium tuberculosis*) beobachtet. Am besten bewährten sich die Nährmedien nach *Minasser*.

c) Hämagglutinationsreaktion

Zum Abschluss des Versuches wurde normaler und Immun-MPS auf seinen Gehalt an AK durch die Hämagglutinationsreaktion nach *Middlebrook-Dubos* (44), modifiziert von *Brodhage* (45), geprüft. Diese Reaktion wurde von Herrn Dr. *Brodhage* durchgeführt. Zur Erythrozytensensibilisierung verwendete er folgende Substanzen:

1. humanes Sauton-Tuberkulin;
2. bovines Sauton-Tuberkulin;
3. I P 48 (Paris) und
4. vierfach cingedicktes Alttuberkulin Dr. A. Gräub A.-G. Bern.

Die mit letzterer Substanz durchgeführte Reaktion liess sich leider nicht verwerten, da eine vorzeitige Hämolyse auftrat. Ursache war wohl der zu hohe Gehalt an Glycerin.

d) Elektrophoresediagramm

Als Untersuchungsgerät diente ein Elphor-H-Gerät. Puffer pH 8,6. Laufzeit: 15 Stunden. Färbung: Amido-Schwarz P 10. Auftragsmenge 0,05 ccm.

4. Ergebnisse

a) Tierversuch

Tafeln 1—4 zeigen die schematische Übersicht der Ergebnisse des Tierversuchs.

Tafel 5 gibt die Gewichtskurven an.

Jedes Schema zeigt das betreffende Tier mit Nummer und Geschlecht in der rechten oberen Ecke. Der Pfeil rechts neben dem Tier besagt, dass das Tier getötet wurde, das Kreuz, dass es von selber eingegangen ist. Die breite Kolonne rechts neben dem Tier gibt in mm die applizierte Total-MPS-Menge an, wobei 1 mm zwei ccm MPS entspricht. Im abgebildeten Tierschema ist auch der Sektionsbefund eingetragen; schwarz entspricht einem massiven Befall, schraffiert einem mittelstarken, Ringlein einem schwachen und weiss gar keinem. Von oben nach unten sind als Organe: Tracheallymphdrüse, Lungen, Leber, Milz, sacrale und inguinale Lymphdrüsen eingezeichnet. Unter dem Tier sieht man eine Kolonne mit histologischem Befund wiedergegeben, die diese in 3 Stärken angibt. Weiss ist o. B.; darüber stehen die Abkürzungen für Lunge, Leber, Milz und Lymphknoten. Zu unterst ist eine Kolonne für die bakteriologischen Ergebnisse. Die Mycobakterien wurden im Schnitt nach Ziehl-Neelsen gefärbt, um einen Überblick über die Bazillen-Konzentration an Ort und Stelle zu gewinnen.

- + entspricht 1 säurefesten Stäbchen in jedem 10.—100. Gesichtsfeld.
- ++ entsprechen 1 säurefesten Stäbchen in 1 bis 10 Gesichtsfeldern.
- +++ entsprechen 1—10 säurefesten Stäbchen pro Gesichtsfeld.
- ++++ entsprechen 10 u. mehr säurefesten Stäbchen pro Gesichtsfeld.

Statistische Auswertung.

Bei der statistischen Verwertung aller Resultate haben wir uns folgender beider Formeln (36) bedient:

1. Die quadratische Streuung (Standardabweichung):
$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{S(X^2) - \frac{[S(X)]^2}{N}}{N-1}}$$

X = Variable, S = Summe, N = Anzahl der Versuchsgruppen.

2. Der Standardfehler (Fehlergrenze oder standard error):
$$\varepsilon = \pm \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$$

Da Variationen im Applikationsbeginn, Applikationsdauer und Dosierung von Immun-MPS keine unterschiedlichen Resultate ergaben, können die Versuchstiere aller Versuchsgruppen gesamthaft verwertet werden.

Versuchstiere, die mit normalem MPS behandelt wurden (2. und 3. Versuch), sind nicht berücksichtigt worden.

1. Kontrolltiere:

zusammen 41 Tiere; 4 Gruppen zu 12, 9, 12 und 8 Tieren.

Anzahl der Tiere	Lunge stark verändert	Lunge mittelstark verändert	Lunge nicht verändert	Milz stark verändert	Milz mittelstark verändert	Milz nicht verändert
12	8=66,6%	6=50,0%	0= 0%	5=41,6%	2=16,7%	1= 8,3%
12	6=50,0%	4=33,3%	0= 0%	8=66,6%	6=50,0%	2=16,7%
9	6=66,6%	2=22,2%	1=11,1%	6=66,6%	1=11,1%	2=22,2%
8	1=12,5%	3=37,5%	4=50,0%	2=25,0%	4=50,0%	2=25,0%
$\sigma = \pm$	14,4%	6,8%	12,6%	6,8%	2,4%	3,4%
$\varepsilon = \pm$	7,2%	3,4%	3,4%	3,4%	1,2%	1,7%
Durchschnitt = d	48,9%	35,8%	15,3%	50,0%	31,9%	18,1%

2. MPS-Versuchstiere: 4 Gruppen von zusammen 100 Tieren

Anzahl der Tiere	Lunge stark verändert	Lunge mittelstark verändert	Lunge nicht verändert	Milz stark verändert	Milz mittelstark verändert	Milz nicht verändert
41	9=22,0%	18=44,0%	14=34,0%	16=39,0%	17=41,0%	8=19,0%
23	15=65,3%	8=34,8%	0= 0%	12=52,3%	10=43,5%	1= 4,4%
21	10=47,7%	10=47,7%	1= 4,8%	7=33,3%	10=47,6%	4=21,0%
15	9=60,0%	4=26,7%	2=13,3%	8=53,3%	1= 6,7%	6=40,0%
$\sigma = \pm$	10,7%	3,5%	8,8%	3,7%	9,7%	9,8%
$\varepsilon = \pm$	5,4%	1,8%	4,4%	1,0%	4,9%	4,9%
Durchschnitt = d	48,8%	38,3%	13,1%	44,5%	34,9%	21,2%

Vergleich:

	100 MPS-Tiere	41 Kontrolltiere
Lunge stark verändert bei	48,8%	48,9%
Lunge mittelstark verändert bei . . .	38,3%	35,8%
Lunge nicht verändert bei	13,1%	15,3%
Milz stark verändert bei	44,5%	50,0%
Milz mittelstark verändert bei . . .	34,9%	31,9%
Milz nicht verändert bei	21,2%	18,1%

b) MPS-Wirkung auf Tuberkelbazillen-Kulturen

Einige Male trat tatsächlich eine Wachstumsinhibition auf, doch liess sich diese durch den erhöhten Gehalt an H-Ionen erklären. Gepufferte MPS-Lösungen blieben ohne Einfluss auf das Bakterien-Wachstum.

c) Hämagglutinationsreaktion

Tafel 6 zeigt, dass sich jedesmal bei der Reaktion mit Immun-MPS eine Agglutination von 1:10 bis 1:40 ergab, wogegen bei MPS gesunder Tiere in keinem Fall eine Reaktion auftrat.

d) Elektrophoresediagramm

Tafel 7 zeigt 4 Elektrophoresediagramme von verschiedenem MPS. Zwei stammten von normalen Tieren, zwei von immunisierten. Immun-MPS, wie auch Normal-MPS zeigen zwischen der beta- und gamma-Globulin-Fraktion einen ausgesprochenen Gipfel. Die Ergebnisse sind nicht deutbar.

Ergebnisse der Hämagglutinationsreaktion

Hammelerythrozyten wurden sensibilisiert mit:

I. Datum: 17. 11. 51

1. human. Sauton Tuberkulin				2. bov. S. Tuberkulin				3. IP-48 (Paris)				
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
1:10	-	+	-	+	—	++	—	++	—	+++	—	+
1:20	—	(+)	—	—	—	++	+	++	—	+	—	(+)
1:40	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—
1:80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Kontrolle	—	+		(+)	—	+	—	(+)	—	+	—	—

MPS wurde nicht vorbehandelt.

II. Datum: 20. 11. 51

1. human. Sauton Tuberkulin				2. bov. S. Tuberkulin				3. IP-48 (Paris)				
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
1:10	—	+	—	(+)	—	+	—	(+)	—	+	—	—
1:20	—	(+)	—	—	—	(+)	—	—	—	(+)	—	—
1:40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1:80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum-Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

MPS wurde nicht inaktiviert, aber zweimal mit normalen, gewaschenen Hammelerythrozyten vorbehandelt.

a = normales MPS von Kaninchen I

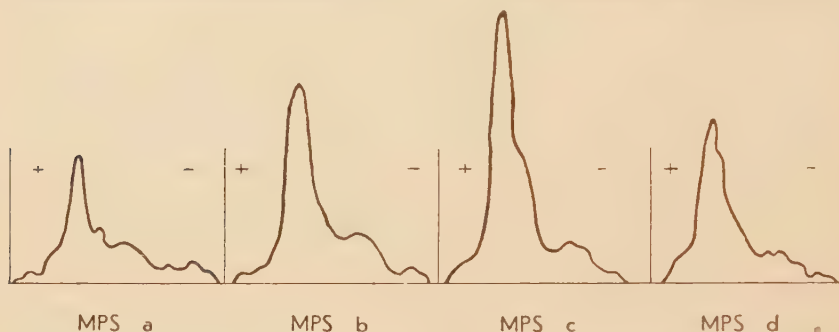
b = Immun-MPS von Kaninchen II

c = normales MPS von Kaninchen III

d = Immun-MPS von Kaninchen IV

Elektrophorese des MPS.

Elphor-H-Gerät Puffer pH-8,6 Laufzeit: 15 Stunden.
Färbung mit Amido-Schwarz B-10 Auftragsmenge: 0,05 ccm.



5. Diskussion der Ergebnisse

Die statistische Auswertung des Tierversuchs hat gezeigt, dass mit MPS behandelte tuberkulöse Meerschweinchen prozentual die gleichen pathologischen Veränderungen aufwiesen wie die Kontrolltiere. Sektionsbefund, histopathologische Untersuchung und Keimzahl ergaben in beiden Fällen übereinstimmende Ergebnisse. Mit wiederholten Wachstumsinhibitionsversuchen auf Tuberkelbazillen-Kulturen bei bis zu 5%igem MPS-Gehalt des Nährbodens wurde keine Beeinflussung des Wachstums erzielt. Das Elektrophorese-Diagramm, das sowohl beim Immun-MPS als auch beim Normal-MPS einen ausgeprägten Gipfel zwischen beta- und gamma-Globulin zeigt, lässt keine sichere Beurteilung zu.

Trotz dieses eindeutig negativen Ergebnisses der beiden ersten Versuche und den unsicheren Resultaten des Elektrophorese-Versuches, weist die Antikörper-Titration bei Immun-MPS immerhin einen Titer von durchschnittlich 1:20, d.h. einen geringen Gehalt an Antikörpern auf, wodurch die Annahme berechtigt scheint, dass eine geringe Menge von Antikörpern muskelständig sei.

Nach unsern eigenen Erfahrungen und nach Durchsicht der einschlägigen Literatur kommen wir zur Überzeugung, dass unsere Versuchsanordnung aus folgenden Gründen verbesserungsfähig ist:

1. ist es unmöglich, den totalen Gehalt an AK einer Lösung an artfremden Tieren zu prüfen. Es müssen zu diesem Zwecke wenn möglich homologe Seren verwendet werden, da sich bei der Applikation von heterologen AK im artfremden Organismus schon nach 15 Tagen die ersten Präzipitine zu bilden beginnen, welche die Immunkörper enthaltende Lösung gesamthaft ausfällen, sodass die Immunkörper immobilisiert werden. Die

Präzipitine bewirken also eine beschleunigte Entfernung der AK aus dem Kreislauf oder, falls ins Gewebe gespritzt, eine Ausfällung der AK an Ort und Stelle. Das ist eine Tatsache, die sich besonders bei Diphtherie manifestiert hat, wo eben die Wirkung von AK am sensibilisierten Organismus wesentlich geringer ist als am nicht sensibilisierten (9 -13). Die Schutzwirkung der dergestalt applizierten AK dauert daher nur solange, als sich keine Präzipitine dagegen gebildet haben.

2. Ein weiterer Grund, warum die Verwendung von heterologen AK nicht angezeigt ist, liegt darin, dass manchmal die heterologen AK nicht imstande sind, im fremden Organismus eine Schutzfunktion auszuüben (37 u. 38). So sind z.B. Opsonine humaner Genese nicht imstande, Phagozytose der Kaninchen-Leukozyten anzuregen.

Selbstverständlich war uns der Nachteil der Anwendung von heterologem MPS bekannt. Wir haben aber als MPS-Spender Kaninchen gewählt, weil diese Tierart bekanntlich gegenüber Tuberkulose vom humanen Typ ausserordentlich resistent ist, sodass selbst bei wiederholten und grossen Infektionsdosen keine Niederbruchsformen befürchtet werden mussten. Die Eignung des Kaninchens hat sich denn auch in allen Versuchen in dieser Hinsicht bewährt. Als eigentliches Versuchstier war aber das Kaninchen zu teuer und nur in relativ geringer Zahl unterzubringen, weshalb es durch Meerschweinchen ersetzt wurde. Ferner musste mit Rücksicht auf irgend eine praktische Verwertbarkeit in der Humanmedizin ohnehin mit heterologem MPS gerechnet werden.

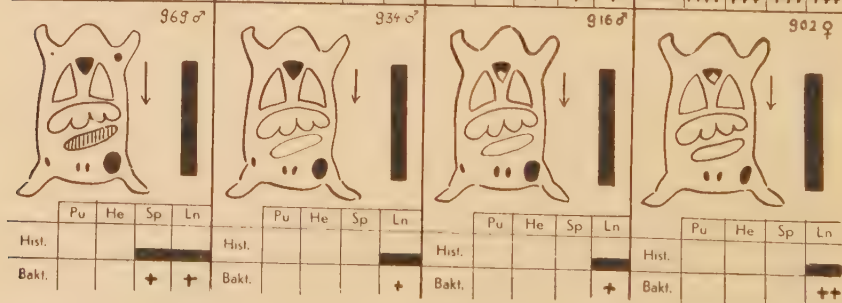
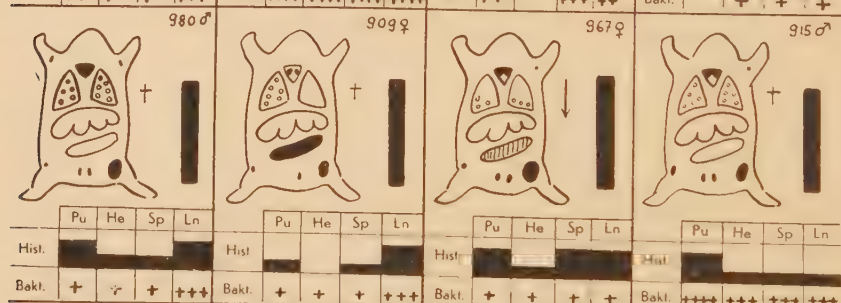
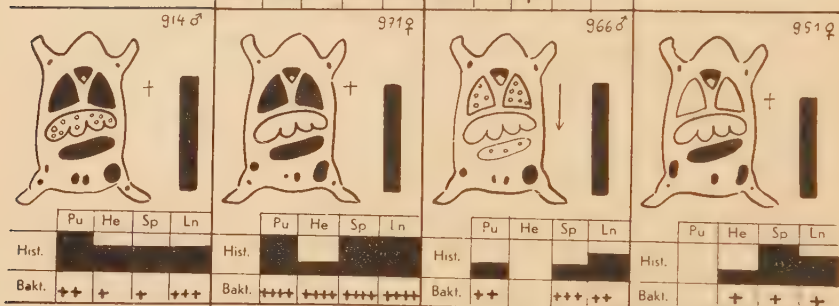
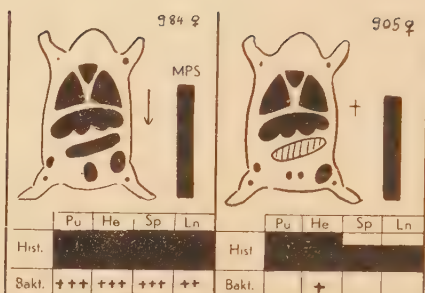
3. bedeutet die Applikation von artfremdem Eiweiss einen Stress im Sinne *Selye's* (39), dem die Kontrolltiere in der letzten Versuchserie nicht unterworfen waren.

Auf Grund der obigen Ausführungen muss darauf hingewiesen werden, dass eine Beurteilung der AK-Wirkung in unserem Tierversuch nicht möglich ist. Es scheint uns aber andererseits die Annahme berechtigt, dass bei dem niedrigen AK-Titer, den unser Immun-MPS enthielt, selbst bei Verwendung von homologem MPS, kein Effekt erzielt worden wäre.

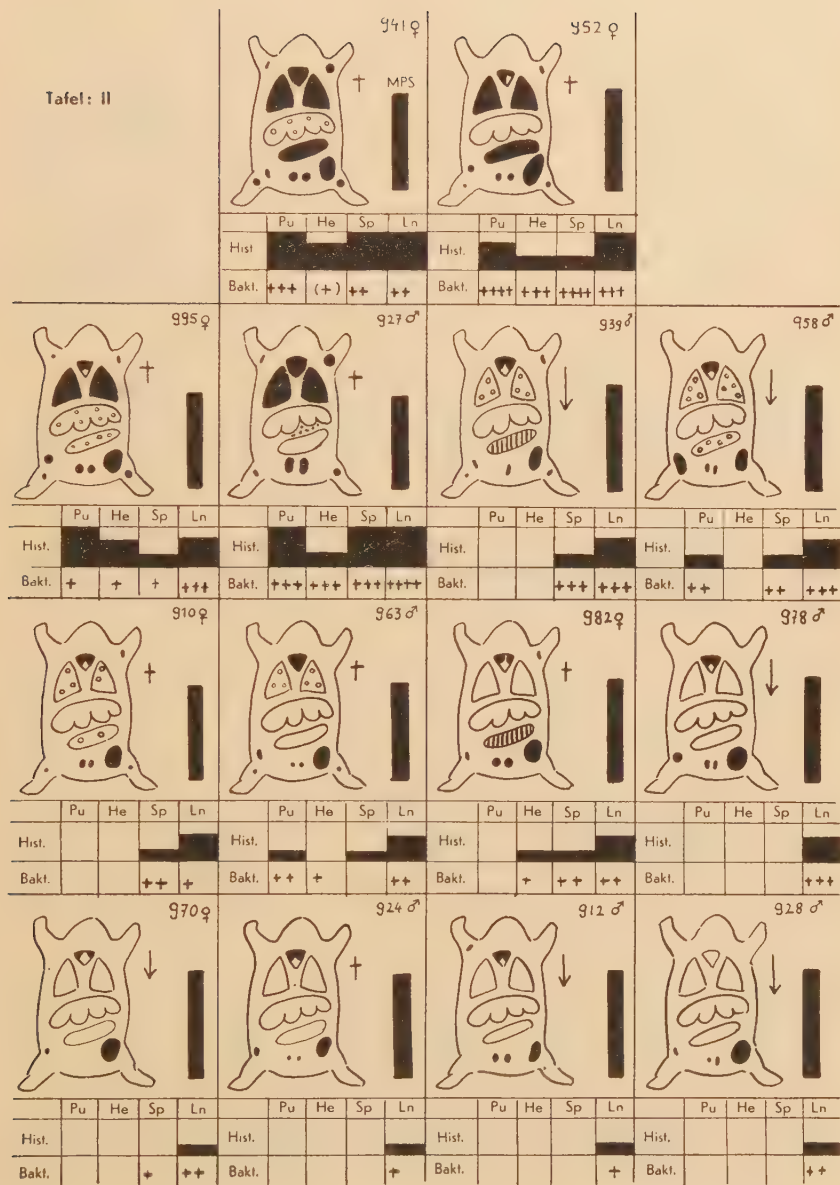
Wir sind der Meinung, dass MPS auf Grund seines niedrigen AK-Gehaltes als unterstützendes Therapeutikum ungeeignet ist. Wir empfehlen daher, für die AK-Therapie nur homologe Seren zu verwenden und von MPS abzusehen. Für weitere Untersuchungen sollten folgende Regeln im Sinne *Rich's* (46) beachtet werden:

1. Homologe Seren verwenden!
2. Nur Seren mit hohem AK-Titer benutzen!
3. Dauernde Serumapplikation, solange und soviel als möglich!
4. Um gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen, auch Kontrolltiere in gleicher Weise mit nicht Immunkörper-haltigem Serum behandeln!
5. Um statistisch auswertbare Zahlen zu erzielen, genügend grosse Anzahl von Versuchs- und Kontrolltieren verwenden!

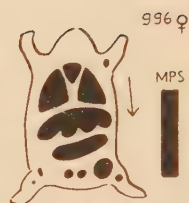
Tafel: I



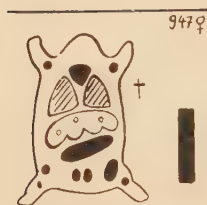
Tafel: II



Tafel: III



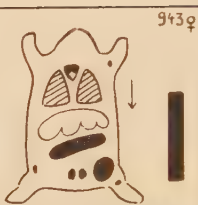
	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.	++	++	++	++



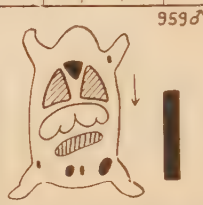
	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.		++	++	



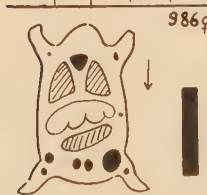
	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.	++	+	+	++



	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.		+	+	+++



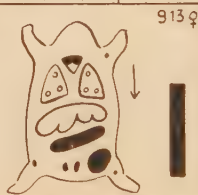
	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.	++++		++	++



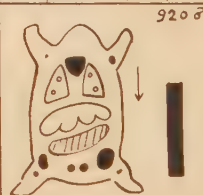
	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.	++		++	+



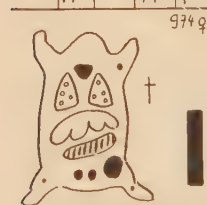
	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.	+		+	++



	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.			+	++



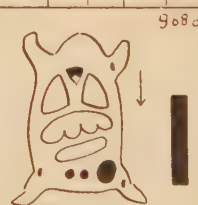
	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.				+



	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.				+



	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.			++	+

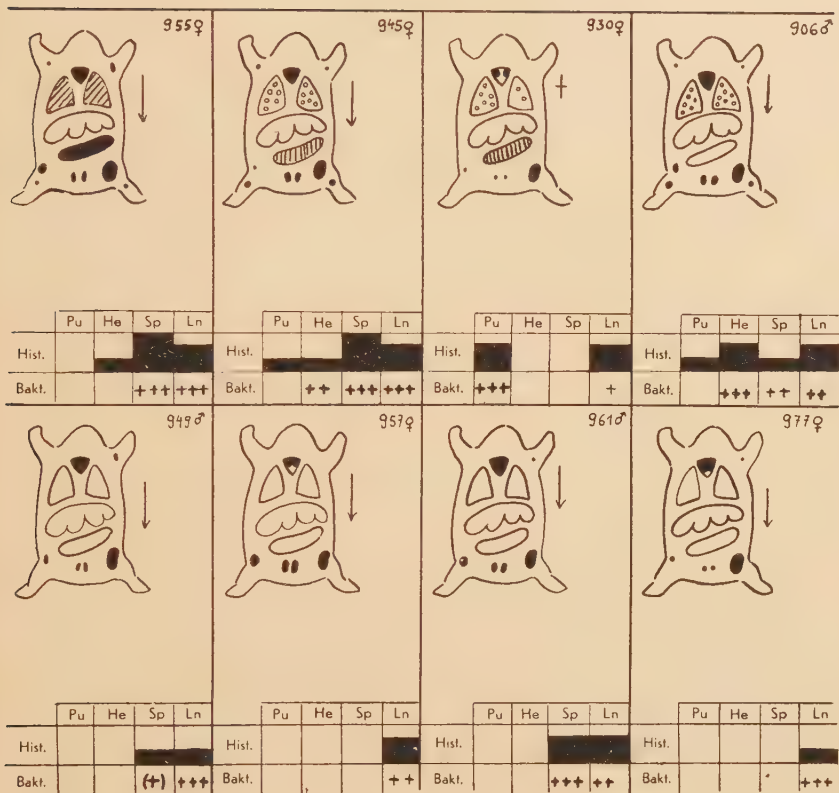


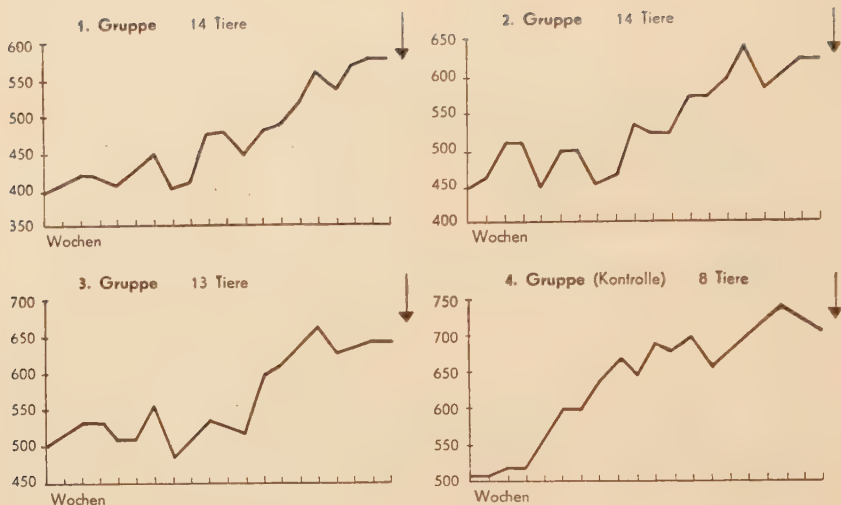
	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.			+	(+)



	Pu	He	Sp	Ln
Hist.				
Bakt.				++

Tafel: IV





6. Zusammenfassung

Vorliegende Arbeit stellt sich die Aufgabe, Muskelpressaft von mit *Mycobact. tubercul. var. hominis* immunisierten Kaninchen auf den Gehalt an AK zu untersuchen und dessen Eignung zur unterstützenden Therapie zu prüfen.

1. Zur Bestimmung des Antikörpergehaltes des MPS wurde die Hämagglutinationsreaktion von *Middlebrook-Dubos*, kombiniert mit elektrophoretischen Untersuchungen, durchgeführt.
2. Die Eignung als unterstützendes Therapeutikum kam im Wachstumsinhibitionsversuch und im Tierexperiment zur Beurteilung. Die Hämagglutinationsreaktion bei Immun-MPS ergab einen Titer von durchschnittlich 1:20; normaler MPS dagegen keine Agglutination.

Bei der elektrophoretischen Untersuchung zeigte sich sowohl im Immun- als auch im Normal-MPS ein Gipfel zwischen der beta- und gamma-Globulinfraktion, so dass kein Unterschied festgestellt werden konnte.

Bei der Gegenüberstellung von 100 mit Immun-MPS behandelten Meerschweinchen und 41 Kontrolltieren manifestierten sich keinerlei Unterschiede bei der Sektion, bei den histologischen Untersuchungen und bei der Keimzahlauszählung.

7. Literaturverzeichnis.

- 1) *Calmette, A.*, Au sujet de relations entre l'allergie tuberculinique et l'immunité dans la tuberculose. Ann. Inst. Past., 49:279, 1932.
- 2) *Willis, H. St.*, The waning of cutaneous hypersensitiveness to tuberculin and the relation of tuberculoimmunity to tuberculoallergy. Am. Rev. Tbc. 17:240, 1928.
- 3) *Choucroun, H.*, Tubercle bacillus antigens. Am. Rev. Tbc. 56:203—226, 1947.
- 4) *Pauling, L.*, Theory of structure and process of formation of antibodies. J. Am. Chem. Soc. 62:643—57, 1940.
- 5) *Turner, T.B.*, Protective antibodies in the serum of syphilitic rabbits. Jour. Exp. Med. 69:867, 1939.
- 6) *Coggeshall, L.T.*, u. *Eaton, M.D.*, The quantitative relationship between immune serum and infective dose of parasites as demonstrated by the protection test in monkey malaria. Jour. Exp. Med. 68:29, 1938.
- 7) *Much, M.*, Tuberkulose. Ergebnisse d. Immunitätsforschg. 2:628, 1917.
- 8) *Römer, P.H.*, Beiträge zum Wesen der Tuberkulose-Immunität. Deutsch. Med. Woch. 40:533, 1914.
- 9) *Hartoch, O. u. Schürmann, W.*, Die Schutzwirkung des Diphtherieserums bei der Reinfektion. Deutsch. Med. Woch. 40:2030, 1914.
- 10) *Glenny, A.T. u. Hopkins, B.E.*, Duration of passive immunity. Jour. Hyg. 22:208, 1923—24.
- 11) *Davidsohn, I. u. Hunt, L.W.*, Serum disease and the therapeutic effect of diphtheria antitoxin. A. Jour. Dis. Child. 52:1325, 1936.
- 12) *Lewis, P.A.*, The preventive action of diphtheria antitoxin in serumsensitized rabbits. Jour. Exp. Med. 16:216, 1912.
- 13) *Trudeau, E.L. u. Baldwin, E.R.*, Experimental studies on the preparation and effects of antitoxin for tuberculosis. Am. Jour. Med. sc. 116:692, 1898.
- 14) *Neufeld, F. u. Lange, B.*, Versuche einer passiven Übertragung der Tuberkuloseimmunität an Schafen. Zeitschrift. f. Hyg. 98:215, 1922.
- 15) *Mayer, E. u. Hurley, D.J.*, The transfusion of tuberculous sheep with the blood of normal and immunized sheep. Am. Rev. Tbc. 2:604, 1918—19.
- 16) *Hanks, J.H. u. Evans, B.*, The action of serum cells and blood on acid-fast bacteria in vitro. Am. Rev. Tbc. 41:605, 1940.
- 17) *Manwaring, W.H. u. Bronfenbrenner, J.*, Intraperitoneal lysis of tubercle bacilli. Jour. Exp. Med. 18:601, 1913.
- 18) *Kirchner, O.*, Besitzen Tuberkulose- und Nichttuberkulosesera bakterizides Vermögen gegenüber dem Tuberkelbazillus? Zeitschrift. f. Immunitätsforschg. 74:56, 1932.
- 19) *Bezançon, F. u. Buc, E.*, La bactériolyse du bacille de Koch dans les humeurs. VII Cong. Nat. de la Tuberc. 108:1931.
- 20) *Römer, P.H. u. Joseph, K.*, Beitrag zum Wesen der Tuberkuloseimmunität. Antikörperstudien. Beitr. z. Klin. d. Tbc. 17:365, 1910.
- 21) *Baldwin, E.R.*, Studies on tuberculous serums and the bacteriolysis of bacillus tuberculosis. Jour. Med. Res. 12:215, 1904.
- 22) *Burnet, E.*, La prétendue destruction des bacilles de Koch dans la péritoine des cobayes tuberculeux. Ann. Inst. Past. 29:119, 1915.
- 23) *Baatz, W.*, Zur Frage der Auflösung von Tuberkelbazillen durch spezifische Immunstoffe. Centr. f. Bakt. 84:81, 1920.
- 24) *Durand, H.*, Granulations tuberculeuses et bacteriolyse. VII Congr. Nat. de la Tuberc. 180:1931.

- 25) *Rist, E.L., Kindberg, M. u. Rolland, J.*, La bactériolyse intrapéritoneale chez le cobaye tuberculeux. *Ann. de Med.* 1:375, 1914.
- 26) *Calmette, A.*, Tubercle bacillus infection and Tuberculosis in Man and Animals. Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1923.
- 27) *Wright, H.D.*, Experimental pneumococcal septicaemia and antipneumococcal immunity. *Jour. Path. a. Bact.* 30:185, 1927.
- 28) *Bull, C.C.*, The Agglutination of bacteria in vivo. *Jour. Exp. Med.* 22:484, 1915.
- 29) *Alphonse, P.*, Myocardites et Tuberculose. La myocardite tuberculeuse, les altérations myocardiques dans la Tuberculose pulmonaire. Thèse. Genève 1947.
- 30) *Saphir, O.*, Isolated Myocarditis. *Am. Heart J.* 24:167, 1942.
- 31) *Costa, M.*, Tuberculosis sperimentale del miocard. *Riv. Path. e Chir. Tuberc.* 1930.
- 32) *Feurig, H.*, Die Einwirkung von Presssäften des Muskels und der Schilddrüse auf Tuberkel-Bazillen. *Beitr. z. Klin. d. Tbc.* 83:453, 1933.
- 33) *Müller, M.*, Die bakteriologische Durchprüfung tuberkulöser Schlachttiere als Erkenntnisquelle hinsichtlich des Ablaufes der tuberkulösen Infektion im Körper. *Beitr. z. Klin. d. Tbc.* 99:533, 1943.
- 34) *Schürmann, P.*, Die hämatogene Tuberkulose der Lungen und ihre Stellung im Gesamtablauf der Tuberkulose. *Schw. Med. W.* 45:1145, 1933.
- 35) *Richet, Ch., Dublineau, J. u. Couder, R.*, Essais de thérapeutique expérimentale; Action des sucs d'organes dans la tuberculose du lapin. *J. de Physiol. et de Path. gén.* 29:294, 1931.
- 36) *Swedberg, B.*, Studies in experimental tuberculosis. *Acta med. Scand. Suppl.* 254, 1951.
- 37) *Tillett, W.S.*, Active and passive immunity to pneumococcus infection induced in rabbits by immunisation with R. pneumococci. *Jour. Exp. Med.* 48:791, 1928.
- 38) *Lucké, B., McCutcheon, M., Strumia, M. u. Mudd, S.*, Correlation between changes in bacterial surface properties and in Phagocytosis caused by normal and immun serum. *Jour. Exp. Med.* 49:797, 1929.
- 39) *Selye, H.*, Textbook of Endocrinology. 2d Edition 837, 1949.
- 40) *Constantini, P.*, Sulla tubercolosi moscolare sperimentale. *Boll. Ist. sieroter. milan.* 12:108, 1933.
- 41) *Hanson, R.*, Report on therapeutic test in certain forms of tuberculosis with an anti-tuberculous serum prepared by J. Reebstierne. *Act. med. Scand. Suppl.* 73:1936.
- 42) *Wein, E.*, Feststellung und Behandlung der tuberkulösen Infektion mittels antitoxischer Heilkörper. Urban-Schwarzenberg Wien. 1918.
- 43) *Hulliger, P.*, Eine neue Behandlung der Tuberkulose. A. Francke, Bern. 1928.
- 44) *Middlebrook, G., Dubos, R. J.*, Specific Serum agglutination of Erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli. *J. Exp. Med.* 88:521, 1948.
- 45) *Brodhage, H.*, Hämagglutinationsreaktion nach *Middlebrook-Dubos* zur Diagnose der Tuberkulose. *Act. Davosiana.* 4, 1951.
- 46) *Rich, A.R.*, The pathogenesis of tuberculosis. Springfield. Charles C. Thomas. 1946.
- 47) *Meyn, A.*, Die tuberkulöse Bakteriämie des Rindes. *Zentrbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Hyg. I. Bd.* 154:15, 1949.

